

## エゾアワビの殻色変異体が形成する卵の色彩変異

小林俊将

### Egg color variation of the shells of variant forms of abalone, *Haliotis discus hannai*

Toshimasa Kobayashi \*1

#### Abstract

The relationship between shell color and egg color was examined using mating experiments between different abalone (*Haliotis discus hannai*) shell color variants. Normal green-type shell color females form green eggs, variant blue-type shell color females form blue eggs, and variant white-type shell color females form white eggs. A correlation between shell color and egg color was observed. The color variations of the eggs correspond to the shell color phenotypes of the female parents as opposed to their genotypes. Variations in egg color do not affect variations in shell color after development. Furthermore, they do not affect shell or egg colors in the next generation. These results indicate that the egg color variations and the shell color variations of the female parents are controlled by the same gene.

**Key words** : *Haliotis discus hannai*, egg, shell, color variation

キーワード : エゾアワビ, 卵, 殻, 色彩変異

#### はじめに

エゾアワビの卵巣や卵には色彩変異が存在することが以前から知られている<sup>1)</sup>。佐々木<sup>2)</sup>はエゾアワビの卵巣の色調に関して、暗緑褐色系の卵巣は成熟卵が多く、鮮青緑褐色系の卵巣は未成熟卵が多いとしている。卵の色が卵質に影響を及ぼしている可能性があるものの、これまで、卵の色彩変異に関する研究はほとんど行われてこなかった。一方で、著者らはエゾアワビにおいて通常の緑色の殻を形成する個体の他に青色および白色の殻を形成する殻色変異個体を発見し、一連の交配実験により、それらの殻色変異の遺伝支配を明らかにした<sup>3-5)</sup>。それらの研究過程において、著者らは、卵およびベリジャー幼生の色彩に変異があることを観察している。この色彩の変異は、遺伝的支配が明らかな殻色変異個体と関連して出現したことから、その遺伝的要因について解析することが可能と考えられた。そこで、本研究では卵の色彩変

異について基礎的な知見を得ることを目的とし、卵の色彩変異の遺伝的要因の解析を行った。

#### 材料と方法

##### 卵の色彩の判別

紫外線照射海水への浸漬刺激により放卵された未受精卵、あるいは媒精して3時間以内の受精卵の色彩を実体顕微鏡で観察した。卵の色彩の違いを定量化するために、卵を実体顕微鏡に設置したデジタルカメラで撮影した。撮影した画像は菅野ら<sup>6)</sup>の手法を参考に以下のとおり数値化した。まず、画像編集ソフト Adobe Photoshop 5.0.2J に取り込み、解像度を1にした状態でランダムに10箇所(10ピクセル)の色を抽出した。抽出した色は、Lab 表色系で数値化し、10箇所の平均値をその卵の色彩を表す数値とし、卵10個ずつを計測して各ロットの値とした。

\*1 岩手県水産技術センター(Iwate Prefectural Fisheries Technology Center)

### 殻色型の判別

殻色型は既報<sup>3,4)</sup>に従い、通常、緑色型の殻を形成する配合飼料（コスモ海洋牧場社製：スタンダードタイプ）を与えた時の殻色で判別した。典型的な緑色型と青色型と白色型の個体の殻を Fig.1(C)に示した。既報<sup>4)</sup>のとおりに白色型の個体は、多くの場合、部分的に淡紅色あるいは赤褐色の殻を形成するが、淡紅色あるいは赤褐色の殻の部分が多い個体も白色型とした。また、青色型は珪藻を摂餌している時期に緑色の殻を形成するため螺頂部が緑色の個体も青色型とした<sup>3)</sup>。

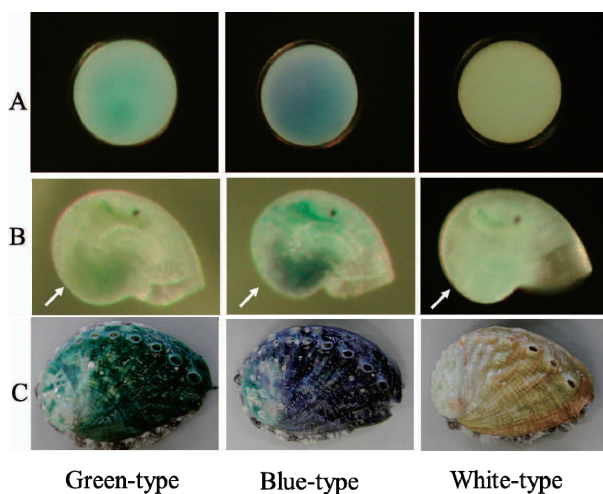


Fig.1 Typical color variations of green-type, blue-type, and white-type *H. discus hannai*

A: Eggs formed in individuals of each shell color variation.

B: Veliger larvae that developed from the eggs shown in panel A. The yolk region is indicated with an arrow.

C: Shell color variations observed in this study.

### 殻色型の遺伝子型

本研究で用いた殻色変異体の遺伝子型は既報<sup>3,5)</sup>の交配実験に基づき推定したものを記載した。なお、青色型が出現した集団と遺伝的類縁関係のない集団は青色型の劣性遺伝子を持たないものと仮定して遺伝子型を推定した。同様に白色型が出現した集団と遺伝的類縁関係のない集団は白色型の劣性遺伝子を持たないものと仮定して遺伝子型を推定した。

### 交配実験

殻色型と卵の色彩との関係を明らかにするために殻

色型の遺伝子型が明らかな親具を用いて6組の交配をした (Table1)。交配区1では緑色型のホモ同士を交配した。交配区2では白色型のホモ同士を交配した。交配区3では青色型のホモ同士を交配した。交配区4では緑色型のホモの♀と白色型のホモの♂を交配した。交配区5では青色型のホモの♀と白色型のホモの♂を交配した。交配区6では緑色型と青色型のヘテロ同士を交配した。

各交配区では交配時に卵の色彩を観察した。また、その卵から発生した各交配区の子世代の殻色を確認した。更に、そのうちの♀1～6個体を成熟させて採卵し、子世代の雌が形成する卵の色彩を観察した。ただし、交配区2で使用した雌親の卵の色彩に関する観察データはない。

また、交配4～5日にベリジャー幼生の色彩を実体顕微鏡で観察し、卵の色彩との関連性を確認した。

Table 1 Shell color type and genotype of parents and offspring in each crosses.

| Cross No. | Parents                                  |                                        | Offsprings                      |
|-----------|------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------|
|           | Female<br>Shell color type<br>(genotype) | Male<br>Shell color type<br>(genotype) | shell color type<br>(genotype)  |
| 1         | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/G^b$ )          | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/G^b$ )        | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/G^b$ ) |
| 2         | White<br>( $w/w, G^b/G^b$ )              | White<br>( $w/w, G^b/G^b$ )            | White<br>( $w/w, G^b/G^b$ )     |
| 3         | Blue<br>( $G^w/G^w, b/b$ )               | Blue<br>( $G^w/G^w, b/b$ )             | Blue<br>( $G^w/G^w, b/b$ )      |
| 4         | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/G^b$ )          | White<br>( $w/w, G^b/G^b$ )            | Green<br>( $G^w/w, G^b/G^b$ )   |
| 5         | Blue<br>( $G^w/G^w, b/b$ )               | White<br>( $w/w, G^b/G^b$ )            | Green<br>( $G^w/w, G^b/b$ )     |
| 6         | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/b$ )            | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/b$ )          | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/b$ )   |
|           |                                          |                                        | Green<br>( $G^w/G^w, G^b/b$ )   |
|           |                                          |                                        | Blue<br>( $G^w/G^w, b/b$ )      |

### 交配と飼育

いずれの交配も、交配および幼生の飼育は Kobayashi et al<sup>3)</sup>と同じ手法により岩手県水産技術センターで行なった。各交配組は個別の透明な200コンテナに採苗し、初めは採苗板およびコンテナの内面に繁茂する付着珪藻を摂餌させた。殻長が約5mmになった後は配合飼料(株

コスモ海洋牧場製：スタンダードタイプ）を与えた。採苗後しばらくは約 20℃に調温したろ過海水を、その後は自然水温のろ過海水をかけ流して飼育した。成長に伴い 2 t 水槽内に設置した飼育カゴに移して催熟した。ただし、交配区 2 の親個体は田老町漁業協同組合のアワビ種苗生産施設で交配したものを、岩手県水産技術センターに搬入して飼育した。

## 結 果

本研究では緑色、青色、白色を示す卵が観察され、それぞれを緑色型卵、青色型卵、白色型卵とした (Fig. 1-A)。なお、各卵色は 1 腹中において一色を示し、受精前後で色彩の変化は観察されなかった。また、緑色型卵と白色型卵について、同一の緑色型の雄と交配した場合の受精率およびふ化率に有意差は認められなかった (t-検定：有意水準 5%)。同様に、緑色型卵と青色型卵についても、同一の緑色型の雄と交配した場合の受精率およびふ化率に有意差は認められなかった (t-検定：有意水準 5%)。

### 卵の色彩の定量

各卵色型の色彩を定量的に比較するために、それぞれ 10 個ずつ Lab 表色系により数値化した。X 軸に L、Y 軸に a、Z 軸に b をとり各型の卵をプロットした。その結果、3 つの卵色型が相互に重複せずに分布した (Fig. 2)。緑色型卵、青色型卵、白色型卵での L の平均値はそれぞれ

$51.2 \pm 4.3$ ,  $44.8 \pm 3.3$ ,  $65.3 \pm 5.8$  でいずれの型間でも有意に異なった (t 検定： $P < 0.01$ )。また、a の平均値はそれぞれ  $-13.8 \pm 1.6$ ,  $-3.9 \pm 1.6$ ,  $-4.1 \pm 1.6$  で青色型と

白色型間では有意差は認められなかったが、その他の型間では有意に異なった (t 検定： $P < 0.01$ )。また、b の平均値はそれぞれ  $20.0 \pm 1.4$ ,  $3.3 \pm 1.7$ ,  $26.2 \pm 1.9$  でいずれの型間でも有意に異なった (t 検定： $P < 0.01$ )。

### 卵色とベリジャー幼生の幼殻基底部色素との関係

本研究で観察したベリジャー幼生の幼殻基底部の色彩を Fig. 1 の B に示した。ベリジャー幼生の観察では緑色型卵から発生したベリジャー幼生は幼殻基底部が緑色だった (Fig. 1-B: 矢印)。これに対し、青色型卵から発生したベリジャー幼生の幼殻基底部は青色、白色型卵から発生したベリジャー幼生の幼殻基底部は白色だった (Fig. 1-B: 矢印)。緑色型卵、青色型卵、白色型卵とベリジャー幼生の幼殻基底部の色彩は例外なく卵色と同じになった。このことは受精後の発生において、卵で保有している色素がベリジャー幼生でも保有されていることを示している。

### 親貝の殻色と卵色との関係

本研究で観察した卵の母貝の殻色を Fig. 1 の C に示した。各殻色の色彩を卵色と同様に Lab 表色系で表すと、3 型は相互に重複せずに分布した (Fig. 3)。緑色型、青色型、白色型の殻色型での L の平均値はそれぞれ  $30.4 \pm 4.3$ ,  $32.9 \pm 8.7$ ,  $73.6 \pm 3.6$  で緑色型と青色型間では有

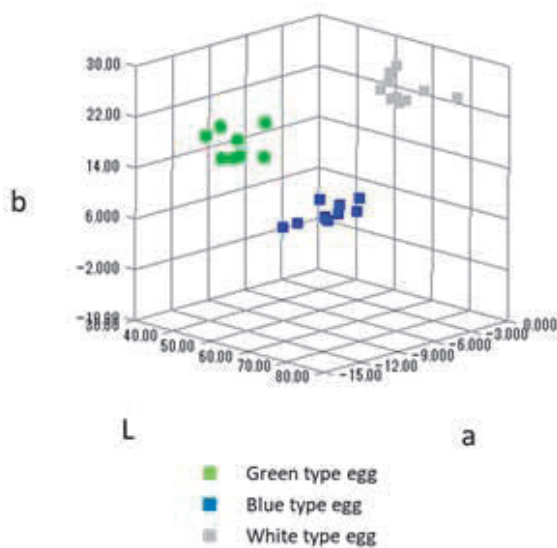


Fig.2 Color value distribution in three color-type eggs of *H. discus hannai*, as measured in the laboratory.

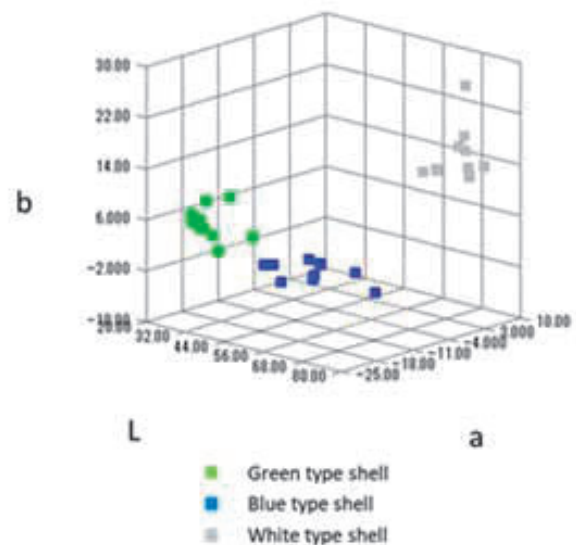


Fig.3 Color value distribution in three color-type shells of *H. discus hannai*, as measured in the laboratory.

なった (t 検定 :  $P < 0.01$ )。また, a の平均値はそれぞれ  $-18.9 \pm 3.3$ ,  $-0.8 \pm 2.2$ ,  $1.7 \pm 2.2$  で, いずれの型間でも有意に異なった (t 検定 :  $P < 0.05$ )。また, b の平均値はそれぞれ  $5.3 \pm 2.8$ ,  $-6.4 \pm 1.7$ ,  $16.8 \pm 4.0$  でいずれの型間でも有意に異なった (t 検定 :  $P < 0.01$ )。また, 卵色と殻色の関係を知るために, Lab 表色系の分布を比較すると, 緑色型卵と緑色型の殻, 青色型卵と青色型の殻, 白色型卵と白色の殻は重複しないものの類似した領域に対応して分布することが示された (Fig. 2, 3)。このことから, 各母貝の卵色は例外なく各母貝の殻色と対応する色彩を示したことになる。

## 交配実験

卵色の遺伝支配を明らかにするために, 各交配区における親の殻色と卵色, そこから得られた子供が成熟して親貝となった時の殻色と卵色の関係について Fig. 4 に示した。

交配区 1 において殻色が緑色型の♀親の卵は緑色型卵であり, 殻色が緑色型の♂との交配の子は全て殻色が緑色型であった。このうち次世代の交配に用いた♀ 1 個体の卵色を調べたところ緑色型卵を形成した。

交配区 2 では♀親の卵の色彩は未確認だったが, 殻色が白色型♀親と殻色が白色型の♂との交配を行った結果, すべての子は殻色が白色型となり, このうち次世代の交配に用いた♀ 4 個体の卵色を調べたところ, 4 個体すべてが白色型卵を形成した。

交配区 3 では殻色が青色型の♀親の卵はいずれも青色型卵であり, 殻色が青色型の♂との交配の子は全て殻色が青色型となった。このうち次世代の交配に用いた♀ 2 個体の卵色を調べたところ, 2 個体はいずれも青色型卵を形成した。

交配区 4 では殻色が緑色型の♀親の卵は緑色型であり, 殻色が白色型の♂との交配を行った結果, 子は全て殻色が緑色型となり, このうち次世代の交配に用いた♀ 2 個体の卵色を調べたところ, 2 個体はいずれも緑色型卵を形成した。

交配区 5 では殻色が青色型の♀親の卵はいずれも青色型卵であり, 殻色が白色型の♂との交配を行った結果, 子は全て殻色が緑色型となり, このうち次世代の交配に用いた♀ 1 個体の卵色を調べたところ緑色型卵を形成した。

交配区 6 では殻色が緑色型の♀親の卵は緑色型卵であり, 殻色が緑色型♂との交配の子は緑色型と青色型が 3 : 1 に分離して出現した。このうち次世代の交配に用いた♀ 6 個体の卵色を調べたところ, 殻色が緑色型の 3 個体はすべて緑色型卵を形成し, 殻色が青色型の 3 個体

はすべて青色型卵を形成した。

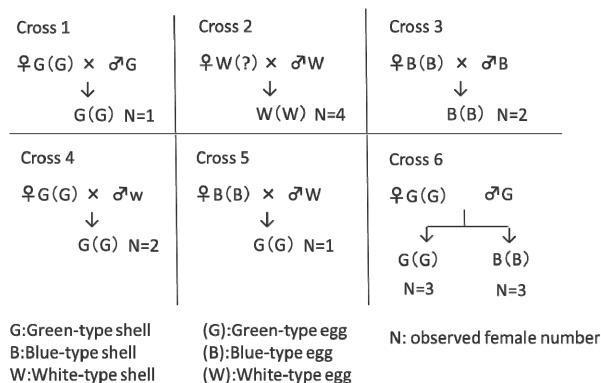


Fig. 4 Relationships between the shell and egg colors of the parents and offspring of *H. discus hannai* as determined by mating experiments.

## 考 察

本研究では, Lab 表色系の値が, 緑色型卵と緑色型の殻, 青色型卵と青色型の殻, 白色型卵と白色の殻は類似した領域に対応して分布した。このことは卵と殻には同色系の色素が含まれていることを示しており, 同じ色素が利用されている可能性がある。しかし, 卵の色彩と殻色の Lab 値は類似した領域を示しているものの重複していないことから, この点については色素の化学分析を含めて更に検証が必要である。

また, 本研究では各殻色型の雌から得られた卵を受精させて発生したベリジャー幼生の観察で, 幼殻基底部の色彩に卵の色彩と同様の変異が認められた。*Haliothis* 属では母親由来の卵黄がトロコフォア幼生やベリジャー幼生に保持されることが知られており<sup>1)</sup>, 今回観察された色彩変異は卵黄に蓄積される色素の変異であると考えられる。つまり, 母親の殻色変異を引き起こす遺伝的変異が直接的, あるいは間接的に卵黄への色素の蓄積に影響し, これらの色素は発生に伴い卵黄と一緒に吸収されたと推察される。

卵の色彩変異と発生後の殻色や成長後に形成する卵の色彩の関係をみてみると, 交配区 5 では青色型卵から発生した個体の殻色が緑色型となり緑色型卵を形成した。更に, 交配区 6 では緑色型卵から発生した個体のうち一部の個体の殻色は青色型となり青色型卵を形成した。このことは卵の色彩変異が発生後の殻色や成長後に形成する卵の色に影響を及ぼしていないことを示している。

本研究で殻色が緑色型の雌は例外なく緑色型卵を形



成した。また、殻色が白色型の雌は例外なく白色型卵を形成し、殻色が青色型の雌は例外なく青色型卵を形成した。このことは殻色型と卵色型は例外なく対応して決定されるものと考えられた。殻色型と卵色型が対応関係にあるならば、前報<sup>3-5)</sup>までに明らかにした殻色型の遺伝支配と対応することが考えられる。本研究で用いた殻色変異体は緑色型が青色型及び白色型に対して優性であることから、表現型が緑色型の殻色個体でも遺伝子型は緑色型のホモ ( $G^w/G^w, G^b/G^b$ )、緑色型と白色型のヘテロ ( $G^w/w, G^b/G^b$ )、緑色型と青色型のヘテロ ( $G^w/G^w, G^b/b$ )、白色型と青色型のヘテロ ( $G^w/w, G^b/b$ ) の4つの組み合わせが存在する。本研究で卵の色彩を確認した殻色が緑色型の個体の遺伝子型は、交配区1の雌親と子どもは緑色型ホモ ( $G^w/G^w, G^b/G^b$ )、交配区4の子どもは緑色型と白色型のヘテロ ( $G^w/w, G^b/G^b$ )、交配区5の子どもは白色型と青色型のヘテロ ( $G^w/w, G^b/b$ )、交配区6の雌親と子どもの一部は緑色型と青色型のヘテロ ( $G^w/G^w, G^b/b$ ) であった (Table1)。したがっていずれの遺伝子型でも殻色の表現型が緑色型であれば緑色型卵を形成したことになる。これらのことから、本研究で観察された卵の色彩変異は2つの遺伝子座で支配される母親の殻色変異に対応して変化することが明らかであり、卵の色彩変異が母親の殻色変異の遺伝的支配と同じである可能性を示している。このことは、殻色型を支配する遺伝子座で作られた色素が殻だけでなく卵にも影響を与えていることを意味し、貝類の色彩変異における遺伝子の多面的発現による可能性が考えられる。

エゾアワビにおいて卵に含まれるタンパクや脂質の含有量などの卵質が幼生や初期稚貝の生残には重要であることが報告されている<sup>7)</sup>。本研究では卵の色調と受精率やふ化率に与える影響は認められなかったが、卵の色彩と卵質との関係については更に検証する必要があると思われる。また、エゾアワビの卵色と経済的価値のある形質との関連について調べることにより、選抜育種に有益な情報を得ようとする研究も行われてきており<sup>8)</sup>、将来的には卵色に関する基礎的知見が産業面で応用されることが期待される。

## 文 献

- 1) Hahn, K. O. (1989) Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press, Florida, pp 348.
- 2) 佐々木良：エゾアワビの加入機構に関する生態学的研究．宮城水産研報，1，1-86 (2001)．
- 3) T. Kobayashi, I. Kawahara, O. Hasekura and A. Kijima: Genetic control of bluish shell color variation in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research*, 23(4), 1153-1156 (2004).
- 4) 小林俊将・原素之・菊地省吾：エゾアワビに出現した白色型の殻色の遺伝的支配について．水産育種，34，143-147 (2005)．
- 5) T. Kobayashi, M. Hara and A. Kijima: Genetic control of white and blue shell color variation in the Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Fish Genet. Breed. Sci.*, 41: 33-48 (2012).
- 6) M. Kan-no and A. Kijima: Quantitative and Qualitative Evaluation on the Color Variation of the Japanese Sea Cucumber *Stichopus japonicus*. *SUISANZOSHOKU*, 50(1): 63-69 (2002).
- 7) H. Fukazawa, H. Takami, T. Kawamura and Y. Watanabe: The effect of egg quality on larval period and postlarval survival of an abalone *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research*, 24(4): 1141-1147 (2005).
- 8) Y. Feng, B. Yuan, X. Jiang, X. Liu, Z. Li, G. Sun and X. Xu: Comparative transcriptome analysis of abalone *Haliotis discus hannai* with green and gray egg colors. *Journal of Oceanology and Limnology*, 39(1): 350-361 (2021).